RÉSOLUTION OIV-OENO 462-2014

CODE DES BONNES PRATIQUES VITIVINICOLES DESTINÉES À PRÉVENIR OU À LIMITER LA CONTAMINATION PAR BRETTANOMYCES

L'ASSEMBÉE GÉNÉRALE,

CONSIDÉRANT les actions du Plan Stratégique 2009-2012 de l'OIV, et en particulier la nécessité de proposer des moyens destinés à détecter et à limiter les contaminations,

CONSIDÉRANT que la maîtrise de Brettanomyces constitue l'un des aspects importants en matière de vinification ; les Brettanomyces sont impliquées dans l'altération du vin en conduisant à des défauts de flaveur,

ÉTANT DONNÉ que les Brettanomyces sont présentes sur les raisins et sur les équipements de vinification, les moûts de raisin sont susceptibles d'être contaminés très tôt. Cependant, ces levures prolifèrent généralement après les fermentations alcooliques et/ou malolactiques, pendant l'élevage vin et après la mise en bouteille,

RECOMMANDE, en se basant sur les résultats obtenus au cours de ces dernières années par les études et recherches menées sur la contamination par Brettanomyces, de proposer des pratiques destinées à réduire cette contamination au travers de pratiques viticoles et œnologiques.

EN PRENANT EN COMPTE les travaux du Groupe d'experts « Microbiologie »,

DÉCIDE d'adopter le Code des bonnes pratiques vitivinicoles destinées à prévenir ou à limiter la contamination par Brettanomyces. Ce code détermine les mesures devant être mises en place dans les vignes et les caves afin de contribuer à réduire les risques liés à la présence de Brettanomyces.

CODE DES BONNES PRATIQUES VITIVINICOLES DESTINÉES À PRÉVENIR OU À LIMITER LA CONTAMINATION PAR BRETTANOMYCES

PRÉAMBULE

- Parmi les processus qui altèrent la qualité du vin, la production de phénols volatils par les Brettanomyces spp. est largement répandue et de plus en plus problématique. Ces composés sont caractérisés notamment par des arômes d'encre ou de colle et des odeurs de sueur de cheval, de cuir ou d'écurie.

Exemplaire certifié conforme Mendoza, 14 novembre 2014
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2014

- Les phénols volatils, principalement le 4-éthylphénol et le 4-éthylgaïacol, sont respectivement produits à partir de l'acide p-coumarique et de l'acide férulique après décarboxylation enzymatique (cinnamate décarboxylase, PAD) et réduction (vinyl-phénol réductase, VPR). Ces précurseurs sont présents de façon naturelle dans les moûts de raisin. L'étape de décarboxylation causée par l'activité cinnamate décarboxylase a été décrite pour de nombreuses espèces de bactéries, levures et champignons, tandis que l'étape de réduction causée par l'activité vinyl-phénol réductase, ou VPR, est plus largement spécifique aux espèces Brettanomyces/Dekkera.
- Étant donné que les Brettanomyces sont présentes sur les raisins et sur les équipements de vinification, les moûts de raisin sont susceptibles d'être contaminés très tôt. Cependant, ces levures prolifèrent généralement après les fermentations alcooliques et/ou malolactiques, pendant l'élevage, du vin ou après le conditionnement.

INTERVENTIONS DANS LE VIGNOBLE

Non applicable (pas d'étude disponible à notre connaissance). Néanmoins, des levures Brettanomyces ont été détectées sur les peaux de raisin depuis les premiers stades de développement des baies. L'écologie microbienne de la surface du raisin a montré une grande diversité, avec une faible population pour chaque espèce (Renouf et al., 2007).

Une première approche préventive, consistant en une sélection rigoureuse des raisins sains, peut participer à réduire le risque de Brettanomyces, qui est généralement plus présente sur les raisins pourris.

INTERVENTIONS PENDANT LA VENDANGE

Gestion du raisin :

Brettanomyces est présente sur les raisins mais ne représente pas l'espèce majeure de levure (faible population). Cependant, l'élimination des raisins pourris peut limiter les altérations par Brettanomyces.

La vendange de baies en surmaturité est de plus en plus fréquente et dans ce cas des précautions particulières pourraient être envisagées. Les apports organoleptiques sont intéressants, mais cela augmente les risques de production de phénols volatils, le contenu en précurseurs de phénols volatils étant plus élevé sur les raisins en

Exemplaire certifié conforme Mendoza, 14 novembre 2014
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2014

surmaturité. Le fait de travailler dans ces conditions n'accroît pas forcément la présence de Brettanomyces, mais augmente les risques liés à leurs activités (acidité totale plus faible, pH plus élevé qui influe directement sur les niveaux de SO2 moléculaire puis sur le développement de Brettanomyces).

INTERVENTIONS À LA CAVE

Une diminution de la diversité microbienne est observée au cours de la fermentation alcoolique, en raison de multiples facteurs, dont l'augmentation du titre alcoométrique. Cependant, Brettanomyces possédant une bonne résistance à l'éthanol, sa présence ne décroit pas , par conséquence une hygiène parfaite est essentielle lors de la vinification (raisins sains, équipements de vinification et de stockage, etc.).

Opérations et traitements pré-fermentaires

- Il est recommandé de garantir l'application de pratiques d'hygiène appropriées dans la cave.
- Les facteurs les plus importants sont le sulfitage et la température:
    - Le sulfitage est l'action préventive la plus efficace au stade pré-fermentaire pour limiter le développement de populations de Brettanomyces ; il est cependant recommandé d'éviter les sulfitages excessifs (>8 g/hL) qui pourraient retarder la fermentation malolactique.
    - Une macération pré-fermentaire à haute température (au-delà de 65 °C) permet l'inactivation de Brettanomyces, mais également d'autres microorganismes dans la vinification. Une macération à froid à une température inférieure ou proche de 10 ºC prévient leur prolifération sans pour autant les tuer.
- Dans tous les cas des contaminations ultérieures restent possibles.

Opérations fermentaires

Fermentation alcoolique (FA) :

- Au cours de la FA, la diversité microbiologique décroît et Saccharomyces

Exemplaire certifié conforme Mendoza, 14 novembre 2014
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2014

cerevisiae devient l'espèce principale. Toutefois, du fait de sa résistance à l'éthanol et de sa faible demande en nutriments, Brettanomyces peut se développer lorsque la FA se ralentit ou s'interrompt. Il convient d'appliquer les pratiques œnologiques couramment recommandées pour la maîtrise de la fermentation alcoolique.

- L'inoculation des moûts avec des levures selectionées contribue à obtenir une FA plus fiable.
- Le milieu devient plus propice à la multiplication de Brettanomyces en cas de ralentissement ou arrêt de la fermentation alcoolique. Dans ce dernier cas il est recommandé de mettre en œuvre au plus tôt une procédurede reprise de fermentation alcoolique.
- Les sucres résiduels (glucose et fructose principalement) constituent un substrat pour le développement de Brettanomyces. Les vins sont généralement considérés comme secs lorsque la teneur en sucres est inférieure à 4 g/L. Une concentration de 0,3 g/L de sucres résiduels s'avère suffisante pour le développement d'une biomasse de Brettanomyces capable de produire plus de 1 000 μg/L de phénols volatils.
- L'ajout de nutriments des levures (susceptibles de bénéficier également au Brettanomyces ne doit être effectué que lorsque cela est réellement nécessaire pour éviter les arrêts de fermentation.

Période de latence avant la fermentation malolactique (FML) :

- Une fois la FA achevée, les conditions ne favorisent pas uniquement les bactéries lactiques, mais également les Brettanomyces, dont la prolifération demeure cependant lente.
- Le milieu étant relativement pauvre en microorganismes, il est important de procéder à un suivi de la population de Brettanomyces.
- Les facteurs favorables à la croissance des Brettanomyces pendant cette phase sont : les macérations finales à chaud (40-45 ºC), la micro-oxygénation et le relargage des sucres dans le cas des vendanges non foulées.
- La co-inoculation des levures selectionées et de bactéries lactiques sélectionnées peut aider à diminuer la période de latence entre la fermentation alcoolique et la fermentation malolactique, et donc le développement de Brettanomyces.

Exemplaire certifié conforme Mendoza, 14 novembre 2014
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2014

Fermentation malolactique (FML) :

- Les paramètres physicochimiques (pH, température, SO2 total) affectent la progression de la FML. Si elle est retardée, le risque de production de phénols volatils augmente car Brettanomyces est susceptible de profiter de ce délai pour se multiplier.
- L'utilisation de levains malolactiques constitue donc une bonne façon de limiter le développement de Brettanomyces. Certaines études ont montré que la co-inoculation ou l'inoculation séquentielle précoce prévenait la contamination par Brettanomyces en réduisant la phase de latence entre la FA et la FML.
- Après la fermentation malolactique, il est recommandé d'éliminer tous les microorganismes, notamment en ajoutant du SO2 seul ou en combinaison avec du DMDC pour obtenir un effet en synergie (Renouf et al.2008). Ces quantités doivent être ajustées en fonction du pH du vin.

Opérations d'élevage et de clarification :

La première précaution indispensable est de pratiquer une analyse microbiologique complète incluant un dénombrement spécifique de Brettanomyces. L'analyse doit être répétée tout au long de l'élevage.

- La maîtrise du SO_2 est cruciale afin de limiter le développement de Brettanomyces. La dose recommandée est de 0,5 à 0,8 mg/Lde SO_2 moleculaire .
- Le vieillissement sur lies constitue un facteur de risque supplémentaire car les Brettanomyces sont à même de survivre et de proliférer dans les lies (qui relâchent des nutriments dans le vin).
- La clarification par soutirage, le collage et la filtration s'avèrent indispensables pour réduire les populations de Brettanomyces viables et viables mais non cultivables pouvant se multiplier en métabolisant les sucres résiduels.
- Certains agents de collage sont plus efficaces que d'autres. Les traitements employant des protéines de collage peuvent réduire les populations de 40 à 2 000 fois). Un collage utilisant de la caséine ou du caséinate de potassium peut réduire les niveaux d'éthylphénol s'ils ne s'avèrent pas trop élevés.
- L'ajout de chitosane constitue une alternative pour le contrôle de la croissance

Exemplaire certifié conforme Mendoza, 14 novembre 2014
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2014

des microorganismes indésirables notamment les Brettanomyces.

- Certaines opérations de vinification (soutirage, ouillage, filtration, mise en bouteille, etc.) peuvent provoquer une dissolution de l'oxygène dans le vin qui favorise la multiplication de Brettanomyces.
- En cas de réalisation d'une micro-oxygénation, l'absence de Brettanomyces doit être vérifiée en pratiquant les analyses appropriées.

NB :

1. Suite à l'ajout de SO2, la population de Brettanomyces peut passer (entièrement ou partiellement) de l'état viable à l'état viable non cultivable (VNC). Ces modifications conduisent à une réduction de la taille des levures, et il est donc nécessaire d'adapter la filtration.
2. Il est également important de noter ici que le dénombrement des VNC ne peut être effectué par une analyse de routine telle qu'une énumération sur boîte de Petri, mais plutôt par une qPCR ou une cytométrie en flux couplée à une hybridation in situ qui dénombre indifféremment les Brettanomyces VNC et viables.

L'élevage sous bois :

L'élevage sous bois est considéré comme la période d'altération par Brettanomyces la plus sensible.

Pendant l'échantillonnage, éviter les contaminations croisées.

Comme pour toute altération microbienne, le vin utilisé pour l'ouillage ne doit pas être contaminé.

Le bois est propice à la croissance de Brettanomyces, qui est capable d'utiliser le cellobiose comme source de carbone. Les fûts sont difficiles à nettoyer et à désinfecter.

Les fûts usagés mal nettoyés sont sources connues de contaminations par les Brettanomyces. Cependant, les fûts neufs favorisent également la multiplication de la levure et la production de phénols volatils, car ils libèrent davantage de nutriments. En outre, ils sont plus perméables à l'O_2, ce qui favorise un potentiel redox relativement élevé et diminue la concentration en SO_2, (actif ou moléculaire), deux paramètres favorables au développement de Brettanomyces.

Différentes approches ont été étudiées pour l'assainissement des fûts, mais aucune n'a permis une élimination complète de Brettanomyces sur la surface interne des douelles

Exemplaire certifié conforme Mendoza, 14 novembre 2014
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2014

ou des bondes. En effet, la microporosité naturelle du bois rend difficile sa désinfection totale car les microorganismes restent dans les cavités des couches inférieures du bois. Le traitement doit avoir une action en profondeur pour une efficacité rémanente et un résultat durable.

Néanmoins, certaines techniques de désinfection des fûts diminuent significativement les populations de Brettanomyces et peuvent être utilisées lorsqu'elles sont permises par les réglementations du pays en question, comme par exemple :

- Les traitements à la vapeur : la désinfection en profondeur nécessite un temps de traitement suffisamment long (rinçage à l'eau froide, rinçage à l'eau chaude à 70 °C et vapeur à faible pression pendant 10 min.
- Stérilisation à l'ozone : soit avec de l'ozone gazeux combiné avec un traitement à l'eau chaude à 82°C pendant 20 min, soit avec de l'eau ozonée. Réagissant avec les matériaux à charge organique élevée, l'ozone ne pénètre pas en profondeur dans le bois.
- Stérilisation au SO_2 : un minimum de 5 g par fût de SO_2 gazeux devrait être employé pour désinfecter les fûts vides et secs. Le SO_2 a une bonne efficacité en surface mais également en profondeur en pénétrant les premiers millimètres du bois.
- Grattage et rebrûlage des fûts : ce traitement ne désinfecte pas le bois mais permet d'éliminer la fraction la plus contaminée. Le grattage et le rebrûlage permettent une diminution de 80 % des phénols volatils en comparaison à un fût non traité.
- Ultrasons : cette technique élimine plus de 90 % des Brettanomyces viables (jusqu'à 2 à 4 mm à l'intérieur de la surface interne des douelles).

Opérations de pré-conditionnement

Le risque de production de phénols volatils doit être évalué avant les opérations de conditionnement, en effectuant des contrôles analytiques (contrôles chimiques et microbiologiques). Une fois le risque évalué, des opérations appropriées doivent être planifiées afin de prévenir le développement de Brettanomyces après le conditionnement:

- Stérilisation par filtration sur membrane (0,45 à 1 μm) ou filtration tangentielle pour une élimination efficace des levures Brettanomyces, suivie d'un

Exemplaire certifié conforme Mendoza, 14 novembre 2014
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2014

conditionnement stérile.

- Utilisation de DMDC pour une protection non-persistante.
- Utilisation des antimicrobiens ayant une protection persistante (acide sorbique, uniquement si les bactéries lactiques ont été totalement éliminées, maîtrise du SO_2 en tenant compte du pH, etc.).
- Traitement par la chaleur.

Conditions de stockage :

Afin de prévenir la prolifération de Brettanomyces dans les bouteilles lors du stockage (et la production de phénols volatils), il est recommandé de conserver les bouteilles à moins de 12°C, en particulier pour les vins faiblement filtrés ou contenant de faibles teneurs en SO_2.

CONCLUSION

- Il est fortement recommandé de procéder à de fréquentes analyses afin de détecter précocement toute contamination par Brettanomyces. Lors des prélèvements, une attention particulière doit être apportée pour éviter les contaminations croisées.
- Il est fortement recommandé de maintenir la cave dans les meilleures conditions d'hygiène possibles.
- Maîtrise du sulfitage.
- Maîtrise des températures.
- Les actions préventives sont préférables aux procédures correctives.
- Les présentes recommandations sont basées sur les connaissances actuelles et sont susceptibles d'être mises à jour sur la base des recherches en cours.

Exemplaire certifié conforme Mendoza, 14 novembre 2014
Le Directeur Général de l'OIV
Secrétaire de l'Assemblée Générale
Jean-Marie AURAND

© OIV 2014